

## 小鼠骨髓来源内皮祖细胞说明书

货号 Cat No.	小鼠骨髓来源内皮祖细胞
规格 specifications	5 x 10 <sup>5</sup> cells/vial
描述 Description	<p>小鼠骨髓来源内皮祖细胞分离自骨髓组织；内皮祖细胞(endothelial progenitor cells,EPCs)是血管内皮细胞的前体细胞,亦称为成血管细胞(angioblast),在生理或病理因素刺激下,可从骨髓动员到外周血参与损伤血管的修复。体外培养的骨髓来源的内皮祖细胞呈圆形、短梭形或不规则形,可向细胞密度低的方向伸出1至数个足突,细胞融合后呈铺路石状排列。</p> <p>小鼠骨髓来源内皮祖细胞采用密度梯度离心后,流式筛选制备而来,细胞经CD34免疫荧光鉴定,细胞纯度可达90%以上,且不含有HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。</p>
分离方法及质量控制 methods and quality control	小鼠骨髓来源内皮祖细胞采用密度梯度离心后,流式筛选制备而来,细胞经CD34免疫荧光鉴定,细胞纯度可达90%以上,且不含有HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。
培养试剂及培养条件 Culture Medium and reagents	<p><b>细胞专用培养基组分:</b> 500ml 基础培养基; 25ml 胎牛血清; 5ml 细胞生长因子; 5ml 青霉素/链霉素溶液 (备注: 每种组分单独包装,使用前需要按比例分装,详细操作详见说明书,现用现配,效果更佳。)</p> <p><b>推荐专用培养基货号: PCM-M-77</b></p> <p><b>0.05%消化液货号: CSP048</b></p> <p><b>无血清细胞冻存液: CSP077</b></p> <p><b>温度: 37°C</b></p> <p><b>气相: 95%空气, 5%二氧化碳</b></p>
培养特性 Culture Properties	贴壁
细胞复苏 Cell Thawing	<p><b>注意:1.低温保存的细胞非常脆弱,请将冻存管放入37°C的水浴中解冻,尽快复苏细胞。</b></p> <p><b>2.提前室温预热培养基。</b></p> <ol style="list-style-type: none"><li>1.在无菌区准备好15ml离心管和T-25培养瓶并分别加入5ml完全培养基;</li><li>2.将冻存管放入37°C水浴锅中,握住冻存管不停晃动,直到内容物完全融化。然后立即将冻存管从水浴中取出,擦干并喷洒75%乙醇,移至无菌区;</li><li>3.小心地拆卸盖子,不要碰到里面的螺纹,用移液枪轻轻吸出细胞悬液,加入到准备好的15ml离心管中,1000rpm离心5min;</li><li>4.弃上清后,轻弹离心管底部分散细胞沉淀,加入适量完全培养基重悬细胞后转入准备好的T25培养瓶(建议加液量:5~7ml);</li><li>5.轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布,如有必要(如使用不透气瓶),松开瓶盖,以便气体交换。</li><li>6.将培养瓶放入CO<sub>2</sub>培养箱中培养。</li></ol>
细胞传代 Subculturing	<p>收到细胞后,请对细胞培养瓶外表进行消毒,将细胞置于培养箱中进行1-2小时的缓冲,待细胞恢复基本生长状态后,进行后续细胞实验。</p> <p>在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况:</p> <p>(一)细胞未长至85%时,用75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到生物操作台内,严格无菌操作,打开细胞培养瓶,若培养瓶上无特殊标注,吸去剩余培养液,只留6-8ml培养液继续培养。</p>

	<p>(二) 细胞已长满 (达 85-95%)。即可进行传代, 具体步骤如下:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 弃去培养液, 用 PBS 洗涤 1-2 次;</li> <li>2. 加入 1.0ml 胰酶消化液, 37°C 消化(消化时间根据不同细胞及所用胰酶有所差异), 显微镜下观察细胞消化情况, 若细胞回缩变圆、透亮、轻拍瓶壁呈流沙样脱落, 则迅速拿回操作台, 加入至少双倍的完全培养液, 终止消化并轻轻吹打细胞 1-2 次, 使其变成单细胞悬液;</li> <li>3. 将细胞收集于离心管中离心 1000rpm/5min, 弃上清, 轻弹管底, 将细胞弹散;</li> <li>4. 加入新鲜培养基重悬细胞, 进行传代;</li> <li>5. 如果没有特别说明, 建议收到细胞后的第一次传代比例为 1:2。</li> </ol> <p><b>注: 1. 观察细胞密度最好用 (4X 物镜) 低倍镜观察, 以便正确的判断细胞密度; 观察细胞形态请用 (10X 或 20X) 高倍镜观察;</b></p> <p><b>2. 推荐使用 0.05% 胰酶/EDTA 消化液 (推荐货号: CSP048) ;</b></p> <p><b>3. 瓶中运输的培养液不能重复使用, 请换新鲜培养液培养;</b></p> <p><b>4. 有些细胞贴壁不牢, 如发现贴壁细胞有脱落, 可离心重悬后接种到新瓶内。</b></p>
<p>细胞冻存 Cell cryopreservation</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 常规方法收集对数期的贴壁细胞或悬浮细胞于试管中。</li> <li>2. 根据培养细胞的密度和冻存管的大小确定所需冻存细胞数。</li> <li>3. 将所需数目的细胞悬浮液置于离心管中, 1000rpm, 5 分钟离心收集培养细胞沉淀, 彻底弃去离心管中的上清液。</li> <li>4. 加入适量的细胞冻存液于离心管中, 使细胞浓度约为 <math>5 \times 10^5 - 1 \times 10^7</math> /ml。轻柔地混匀细胞, 制成细胞混合液。</li> <li>5. 将离心管中的细胞混合液分装于已标记的冻存管中, 建议每管 1ml 或 1.5ml。</li> <li>6. 直接将分装好的细胞冻存管放入 -80°C 超低温冰箱中, 可长期冷冻保存。</li> <li>7. 如果想液氮中长期保存, 需先放入 -80°C 冰箱至少一天时间, 方可移至液氮罐中保存。</li> <li>8. 以上冻存步骤是按照无血清冻存液 (货号: CSP077) 推荐。</li> </ol>
<p>保存 Storage</p>	<p>保存条件: 液氮长期存储</p>
<p>供应限制 Product Use</p>	<p>仅限科研, 不可用于临床</p>
<p>安全性 Safety</p>	<p><b>所有肿瘤和病毒转染的细胞均视为有潜在的生物危害性, 必须在二级生物安全台内操作, 并注意防护</b></p>
<p>常见问题及解决方案 Questions and solutions</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 在收到细胞后先观察培养瓶是否破裂, 漏液等, 如遇到上述问题请及时拍照并与我们联系。</li> <li>2. 贴壁细胞: 培养瓶不开封, 显微镜下检查细胞状态, 瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察, 如细胞大部分又贴回瓶底, 表明细胞活力正常, 剩余少量漂浮的细胞可以去掉, 留 8-10ml 培养液培养观察, 细胞生长至汇合度到达 85% 左右, 进行消化传代; 如细胞仍不贴壁, 将细胞离心收集转到新培养瓶, 原培养瓶加部分培养液继续培养, 注意观察。如细胞仍不能贴壁, 请用台盼蓝染色鉴定细胞活力, 并请及时拍照 (多倍数多视野), 包括染色照片, 并联系我们。(以上仅为贴壁细胞处理方法)</li> <li>3. 悬浮细胞: 培养瓶不开封, 显微镜下检查细胞状态, 瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察, 将整瓶细胞及培养液分批离心 (1000rpm, 5min), 加入适量培养基, 根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养。(以上仅为悬浮细胞处理方法)</li> <li>4. 半悬细胞: 培养瓶不开封, 显微镜下检查细胞状态, 瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察, 将整瓶细胞培养液上层悬浮细胞离心 (1000rpm, 5min), 重悬细胞后加入原培养瓶培养至传代。细胞数量较大, 可将贴壁细胞消化下来, 与上层悬浮细胞混匀传代。重悬上层悬浮细胞时必须保持下层贴壁细胞的营养条件, 防止贴壁细胞缺乏营养。(以上仅为半悬细胞处理方法)</li> </ol> <p>如遇到细胞培养问题请及时拍照并与我们联系, 我们的技术人员会一直跟踪指导。</p>
<p>备注 additional information</p>	<p><b>由于实验所用试剂、操作环境及操作手法的不同, 以上方法仅供各实验室参考。</b></p> <p><b>原代细胞体外培养周期非常有限, 请尽快及时安排实验。</b></p> <p><b>建议中乔新舟配套的专用细胞培养基及正确的操作方法来培养, 以此保证该细胞的佳培养状态。</b></p>